



TITLE:

# 31種の保存を目的としたニホンザル精子の凍結保存技術の確立(VII 共同利用研究 2.研究成果)

AUTHOR(S):

楠, 比呂志

---

CITATION:

楠, 比呂志. 31種の保存を目的としたニホンザル精子の凍結保存技術の確立(VII 共同利用研究 2.研究成果). 霊長類研究所年報 2003, 33: 98-99

ISSUE DATE:

2003-08-27

URL:

<http://hdl.handle.net/2433/165874>

RIGHT:

## 25 ヒヒ類ミトコンドリア DNA の全塩基配列決定とその種分化解明への応用

楠田潤, 橋本雄之(国立感染症研)

ミトコンドリア DNA の変異に起因する遺伝的疾患がヒトでは多数報告されている。これらのなかに霊長類の種間でみられる変異と共通するものがあり、疾患の発症機構の解明という点で興味を持たれている。本年度は既に全構造が明かにされているマントヒヒのミトコンドリア DNA 配列についてヒトとの種間変異と病的変異との関係を調べた。MITOMAP(A human mitochondrial genome database)に登録されている病的点突然変異(タンパク質コード領域および複製開始調節領域: 65 ヶ所, rRNA/tRNA 領域: 91 ヶ所)についてヒト配列と違いがあるかどうかを調べたところ、タンパク質コード領域および調節領域で 12 ヶ所の置換がみられ、そのうち 9 ヶ所は病的変異と一致した。また rRNA/tRNA 領域では 14 ヶ所の置換があり、うち 10 ヶ所は病的変異と同じであった。これらの結果はヒトで疾患を引き起こすミトコンドリア DNA 上の変異もマントヒヒの生理状態にはなら影響を及ぼさないことを意味している。その要因として(1)病的変異によってもたらされる遺伝子もしくは遺伝子産物の構造変化を修復するような相補的変異が同一遺伝子内に起きた。(2)進化的に調節機構が未発達なため、病的変異による遺伝子もしくは遺伝子産物の劣悪化による影響が顕在化しない等の可能性が考えられる。

## 26 チンパンジーおよびニホンザル幼児におけるカテゴリ化の発達研究

村井千寿子(京都大・院・文)

前年度の研究から、チンパンジー乳児が対象物[動物(哺乳類)・乗り物・家具]の知覚カテゴリ的弁別を行うことがわかった。今年度は、哺乳類、鳥、昆虫、爬虫類を含むより包括的な生物対象物をまとめる能力について、チンパンジー乳児 2 個体を対象に実験を行った。実験は、ヒト乳児の実験で一般的である、対象物(模型)に対する事物吟味法によって行った。1セッションにおいて、4種類の刺激がひとつずつ、計2回呈示され、刺激への操作を伴う注視時間が計測された。もし、被験体が各刺激をカテゴリとしてまとめるのであれば、呈示回数に伴う刺激への慣化、つまり反応時間の減少が見られると仮定し、呈示される対象物が、1種類の生物カテゴリ成員(例: 鳥)である場合、4種類の生物カテゴリ成員の混合である場合、また生物・乗り物・家具・食器という異なるカテゴリ成員の混合である場合によって、反応時間の減少にどのような違いが生じるかについて検討した。実験は現在も進行中であるが、1種類の生物カテゴリからの刺激が呈示された場合には、1回目の呈示よりも2回目の呈示において、被験体の注意が低減する傾向が見られている。

## 28 年齢・採食経験別のニホンザルの各種農作物に対する嗜好性

山中成元,

常喜弘充(滋賀農業総合センター)

農試湖北分場)

ニホンザルによる農作物被害対策の一環として、食

害を受けにくい農作物を選定する基礎資料を得るため、現地試験により被害のなかった 30 品目を年齢および採食経験別に給餌し、各種農作物に対する嗜好性を検討した。グループケージの採食経験の少ないニホンザルの嗜好性は、ピーマン、トウガラシ、タカノツメ、クワイ、ショウガ、コンニャク、シュンギク、葉ダイコンが年齢にかかわらず低かった。トウガラシとタカノツメ、ピーマンとパプリカのように同系品目群でも、辛みや苦みの成分が高い品目ほど嗜好性が低かった。放飼場の採食経験の豊かなニホンザルの嗜好性は、タカノツメ、コンニャク、ミョウガ、クワイ、サトイモ、キンサイ、ルッコラ、シュンギク、ミズナ、シソが低かった。以上の結果、飼育ニホンザルにおいて年齢、採食経験にかかわらず嗜好性が極めて低かった農作物は、タカノツメ、コンニャク、クワイであることが判明した。これらの品目はどの地域にも共通して野生ニホンザルに対する忌避作物として作付けできる可能性が高いと推察された。

## 29 チンパンジーにおける絵画的奥行知覚とその発達

伊村知子(関西学院大・文)

チンパンジーとヒトの成体を対象に、絵画的奥行手がかりのうち、陰影手がかり(実験 1)、線遠近法手がかり(実験 2)について検討した。まず実験 1 では、物体自体の面の傾きにより生じる陰影情報(アタッチドシャドウ)に物体が光源を遮蔽することにより別の面に生じる陰影情報(キャストシャドウ)を付加することにより、凹凸の弁別が促進されるかについて、視覚探索課題を用いて検討した。複数の円の中から 1 個だけ他と異なる円(ターゲット)を検出する課題において、キャストシャドウが付加されることにより、チンパンジーでは 1 個体で検出の促進、もう 1 個体で検出の妨害といった個体差が見られた。今後、個体差の原因について検討する必要がある。実験 2 では、2 つの円柱の相対的大小判断課題における線遠近法の影響を調べた。円柱の大きさや配置、線遠近法を含む背景の有無を操作し、正答率を比較した。その結果、チンパンジー、ヒトともに、線遠近法を含む背景上に大きさの等しい円柱が奥行方向に異なる距離に配置されると、「遠く」、すなわち消失点に近い方の円柱を選択する割合が増加した。また、小さい方の円柱が消失点の近くに配置されると、正答率が低下した。したがって、線遠近法が大きさや距離の知覚に影響を及ぼしていることが示唆された。

## 31 種の保存を目的としたニホンザル精子の凍結保存技術の確立

楠比呂志(神戸大・農場)

希少動物の種の保存において、生殖子の凍結保存技術は有力な補助手段であるが、ウシなどの一部の家畜を除けば再現性のある方法が確立しているとは言い難いのが現状である。そこで本研究では、再現性の高いニホンザル精子の凍結保存技術を確立する目的で、2 頭の成熟雄から電気射精法で採取した精液を材料に用いて実験を行った。

まず、家畜ウシと実験用のサルで使用されている HYG と TTE の 2 種類の精子保存用希釈液を比較した結果、TTE を用いたほうが、凍結・融解後に高い生存精子率や運動精子率が得られた。次に、凍害防止剤(グリセ

リン)の至適添加濃度を知る目的で、2.5%と5.0%の比較を行った結果、2.5%のほうが融解後の精子の性状の回復は良好であった。さらに、保存容器として家畜で常用されているストローとバイアルの比較を行ったところ、ストローのほうが、融解後に良好な精子性状が得られた。

本研究で得られたニホンザルにおける以上の至適凍結条件は、昨年度までの共同利用研究において代表研究者がチンパンジーで得た至適条件とは若干異なっていた。

#### 34 アフリカ産霊長類の多様化過程に関する集団遺伝学的研究

嶋田誠(国立遺伝学研究所)

##### ゲラダヒヒのABO血液型に関する研究

昨年度より引き続いて、ゲラダヒヒ(*Theropithecus gelada*)のエチオピア3地点由来の血液標本をもちいた、ABO遺伝子のエクソン6および7領域の塩基配列および血清学的表現型に関する研究を行っている。

現在までのところ、遺伝子型判定の結果ではAB型4個体、B型1個体が確認されており、飼育個体約20頭における先行研究で記載されているすべてO型とする結果とは異なっていた。この結果の方が先行研究の結果より、他の旧世界ザルでO型が稀なタイプである事実と、整合性がある。今後検体数を増やし、血清学的表現型の検査を加えて総合的に考察したい。

##### ゲラダヒヒのミトコンドリアDNA多型に関する研究

上記の研究で抽出したDNA試料をもちいて、ミトコンドリアDNA超可変領域1における塩基配列多型の検出を行っている。

#### 35 ニホンザルゲノム研究の基盤整備

斎藤成也(国立遺伝学研究所)

現在、日本にはヒト以外の霊長類のゲノムライブラリーとして、チンパンジーのBACライブラリー-PTB(国立情報学研究所/理化学研究所ゲノム総合科学研究所の藤山秋佐夫教授が作成;文献1)、ゴリラのフォスミドライブラリー(国立遺伝学研究所の金衛坤・斎藤成也らが作成;論文投稿中)などが存在するが、日本に分布する旧世界ザルであるニホンザルのゲノムライブラリーは存在しない。そこで、藤山秋佐夫教授と共同で、ニホンザルのBACライブラリーを作成することになった。景山節教授の協力により、霊長類研究所で飼育維持しているオスのニホンザル1頭から血液を採取した。これをもとに、BACライブラリーの作成を進めている。作業が少し遅れているので、2003年度中に作成する予定である。作成したBACライブラリーは、霊長類の比較ゲノム研究にとって重要なリソースになることが期待される。

文献1:

Fujiyama A. and others. (2001) Construction and Analysis of a Human-Chimpanzee Comparative Clone Map. *Science*, vol. 295, No. 5552, pp. 131-134.

#### 37 ニホンザルの生殖活動とレプチン分泌の関連について

渡辺元,

児嶋千尋(東京農工大・農・家畜生理),

伊藤麻里子・清水慶子(京都大・霊長研)

レプチンは主に白色脂肪細胞で産生され、脂質代謝や採食行動を調節するホルモンである。レプチン産生能を欠く ob/ob マウスは雌雄ともに不妊を示すことから、近年レプチンと生殖に関する数々の報告がなされている。

温帯以北に生息する多くのほ乳類は、季節繁殖性を示す。また、環境の温度変化に適応するため、食欲や代謝機構も季節によって変化しており、これらが季節繁殖のリズムと深く関わっていることが考えられる。熱帯〜亜熱帯に生息するカニクイザルは周年繁殖動物であるが、温帯に生息するニホンザルは短日繁殖動物であり、実験室飼育下でも明瞭な季節繁殖性を示すことが知られている。そこで本研究では、雌カニクイザルと雄ニホンザルにおいて、人工照明下で12時間毎の明暗期に調節された室内飼育施設での1年間の血中レプチン濃度の変化を、ヒトレプチンRIA法で測定し、昨年の雌ニホンザルの結果と併せて季節繁殖に伴うレプチンの役割を検討した。その結果、カニクイザルでは一年を通して血中レプチン濃度が同程度のレベルで推移することが明らかとなった。一方、雄ニホンザルでは、全体では血中レプチン濃度は有意な変化は示さなかったが、個々では、昨年の雌の結果と同様に半数の個体では4月頃に高く、12月頃に低くなる傾向を示し、一定飼育条件下でも季節変化することが示唆された。本研究から、代謝機構が一年を通してあまり変化しないカニクイザルと比べ、ニホンザルでは、食物の少なくなる冬に、レプチン分泌を低下させる等、代謝機構を変化させ、脂肪を蓄積させるものと推察された。また、この脂肪蓄積が繁殖活動にとって重要な作用を及ぼしているものと推察された。

#### 38 霊長類における橈骨遠位部形状・力学特性の定量分析

菊池泰弘(佐賀医大・医・生体構造機能),

濱田穰(京都大・霊長研・形態進化)

行動様式の違いが知られているマカク3種(半地上性のニホンザル、樹上性のカニクイザル、地上性傾向のアカゲザル)を対象に、橈骨遠位部・断面形状の定量比較分析を行った。pQCT(末梢部定量的X線断層撮影装置)を用いて、全180個体を対象に下橈尺関節部位を撮像し、得られたCT画像から外部輪郭形状を抽出した。それらを極座標化することにより、変曲点として現れる輪郭上の5つのランドマークを決定した。それらによって区切られる5つの輪郭形状は、個体間・種間のいずれにおいても、腱溝や関節面と相同な解剖学的特徴と一致することが示された。この5つの輪郭形状サイズの比を、各部位に隣接する腱や骨の発達指標として種間比較分析を行った。分析の結果、アカゲザルがほかの2よりも相対的に大きな長母指外転筋を持ち、逆に、相対的に長・短橈側手根伸筋が小さいことが示された。アカゲザルでは手根関節が歩行時に内転傾向にあり、この結果はそうした歩行時の姿勢に関連する筋活動パターンと一